

---

# HEMOGLOBINOPATÍAS EN VENEZUELA

ANABEL ARENDS, ANABEL ARENDS, MARYCARMEN CHACÍN,  
MARTHA BRAVO-URQUIOLA, SILVIA MONTILLA,  
JOSÉ MARÍA GUEVARA I, DALIA VELÁSQUEZ DE L.,  
GLORIA GARCÍA, MARITZA ÁLVAREZ Y OMAR CASTILLO

---

## RESUMEN

Entre las hemoglobinopatías, grupo heterogéneo de alteraciones congénitas, destacan: las variantes de hemoglobina, las talasemias y la persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (HPFH). Se determinó la distribución de estas patologías en Venezuela y se demostró que presentan una elevada frecuencia, constituyendo un problema de salud pública. Se analizaron 80400 individuos provenientes de estudios poblacionales de diferentes regiones del país y otros que por presentar anemia hemolítica fueron referidos a dos centros de investigación hematológica. Fueron estudiadas 76400 muestras mediante electroforesis en acetato de celulosa y en citrato agar y 4000 por cromatografía líquida de alta presión de intercambio catiónico (HPLC-CE). Se encontró que el 9% de los individuos presentaron hemoglobinopatías. La variante más frecuente fue la Hb S, segui-

da de las variantes C y D. Además, se observó la presencia de la beta talasemia y su asociación a las hemoglobinas S y C. La frecuencia de los haplotipos del gen  $\beta^s$  estudiados en 272 de pacientes con síndrome drepanocítico (SCA) y heterocigotos para la Hb S fue de 50,8% Benin, 32,2% CAR, 14,2% Senegal y 2,3% Camerún. Se encontró que en los pacientes homocigotos para la Hb S estudiados, solo el 8% fue homocigoto para el haplotipo Ben, 82% fueron doble heterocigotos para los haplotipos Ben/CAR, 8,8% presentaron haplotipos Ben/Senegal, CAR/Senegal y Ben/Camerún y un caso fue homocigoto para el haplotipo CAR. La detección de estas patologías es de importancia para establecer un tratamiento precoz y consejo genético, logrando una mejor calidad de vida y gran ahorro para el sistema de salud.

La molécula de hemoglobina (Hb) puede sufrir alteraciones por mutaciones en los genes que codifican las cadenas de globina, dando origen al desorden genético

más común que afecta al hombre, conocido como hemoglobinopatía. Los desórdenes genéticos de la Hb pueden ser clasificados en tres amplios grupos: las variantes estructurales, las talasemias y un diverso grupo

de condiciones benignas denominadas persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (HPFH).

En 1946, Gómez y Carbone realizaron el primer estudio de células

---

**PALABRAS CLAVE** / Haplotipos del Gen  $\beta$ -globina / Hemoglobinopatías / HPFH / Talasemia / Variantes de Hemoglobina /

Recibido: 22/02/2006. Modificado: 03/07/2007. Aceptado: 09/07/2007.

Anabel Arends. GRADO????, INSTITUCIÓN(ES)???, CARGO ACTUAL??, Servicio de Hematología "Dr. Tulio Arends" (SHTA), Hospital Universitario de Caracas (HUC), Venezuela e Instituto Anatómico "José Izquierdo" (IAJI), Universidad Central de Venezuela (UCV). Dirección: Apto 89758, El Hatillo 1083, Caracas. Venezuela. e-mail: aarends@vcantv.net

Marycarmen Chacín. GRADO????, INSTITUCIÓN(ES)???, CARGO ACTUAL??,SHTA-HUC, Venezuela e IAJI-UCV, Venezuela.

Martha Bravo-Urquiola. GRADO????, INSTITUCIÓN(ES)???, CARGO ACTUAL??,SHTA-HUC, Venezuela, IAJI-UCV, Venezuela y Departamento de Biología Celular, Universidad Simón Bolívar, Venezuela.

Silvia Montilla. GRADO????, INSTITUCIÓN(ES)???, CARGO ACTUAL??,SHTA-HUC, Venezuela e IAJI-UCV, Venezuela.

José María Guevara I. GRADO????, INSTITUCIÓN(ES)???, CARGO ACTUAL??,SHTA-HUC, Venezuela.

Dalia Velásquez de L. GRADO????, INSTITUCIÓN(ES)???, CARGO ACTUAL??,SHTA-HUC, Venezuela.

Gloria García. GRADO????, INSTITUCIÓN(ES)???, CARGO ACTUAL??,SHTA-HUC, Venezuela.

Maritza Álvarez. GRADO????, INSTITUCIÓN(ES)???, CARGO ACTUAL??,SHTA-HUC, Venezuela.

Omar Castillo. GRADO????, INSTITUCIÓN(ES)???, CARGO ACTUAL??,Universidad de Carabobo, Venezuela.

---

falciformes en Venezuela en 40 individuos de raza negra de la población de Paparo, Estado Miranda, utilizando frotis coloreados con azul de cresil, y reportaron una frecuencia de ~5%. Ese mismo año Benaim *et al.* (1946), describieron los dos primeros casos de anemia drepanocítica y cuatro años más tarde Ossot y Agüero (1950) reportaron el primer caso en una mujer embarazada. El hallazgo (Pauling *et al.*, 1949) que lo que producía las células falciformes o drepanocitos era una hemoglobina distinta de la normal, separable electroforéticamente, que se encontraba en forma única en los pacientes con anemia drepanocítica y combinada en los padres de los pacientes, confirmaba la teoría genética de la drepanocitosis postulada ese mismo año por Neel (1949). Estas investigaciones abrieron un campo nuevo en el estudio de las anemias congénitas. En Venezuela, hace 50 años, Arends (1956, 1960, 1961, 1962), determinó que la Hb S en forma heterocigota muestra, dependiendo de la mezcla étnica de las comunidades (Arends, 1971; Arends *et al.*, 1978), una frecuencia variable que va desde un 19% en poblaciones formadas por descendientes de esclavos africanos hasta estar ausente en la región de los Andes. Se demostró que en las zonas de alta frecuencia, esta hemoglobinopatía constituye un problema de salud pública (Arends, 1984). También se encontraron las hemoglobinopatías C y D, pero en menor frecuencia (Arends *et al.*, 1962), y se determinó la frecuencia de las hemoglobinopatías en niños venezolanos (Guevara y Arends, 1962).

Las talasemias se describieron en Venezuela en 1957, tanto en italianos residentes (Romer, 1958) como en la población nativa (Arends, 1960). En estudios de más de cuatro décadas, Arends (1962, 1963, 1969, 1971) y Arends *et al.* (1987, 1990, 1998, 2000) demostraron que la  $\alpha$  y  $\beta$  talasemia menor estaban asociadas a las hemoglobinas S y C, y a la esferocitosis hereditaria. Esto fue encontrado en familias con ancestros de origen italiano, francés y español, así como también en familias nativas, producto de la mezcla de los tres troncos raciales: indígenas, africanos y caucásicos.

Por otra parte, la hemoglobina S presenta una gran variabilidad desde el punto de vista clínico, lo que no solo se debe al mecanismo fisiopatológico que produce la polimerización de la Hb S en las células que la contienen, sino también a otros factores, tales como los efectos epistáticos, donde genes ligados o no pueden afectar la expresión de otro gen normal o mutado. Así, los efectos ligados al gen como los haplotipos del gen  $\beta^s$  o los efectos epistáticos no ligados al gen como las delecciones en el gen -globina, pueden modificar el comportamiento clí-

nico de estas patologías.

El haplotipo del gen  $\beta$ -globina es un patrón de secuencias polimórficas que son estudiadas por medio de enzimas de restricción. La combinación o patrón no aleatorio de los?? sitios de restricción polimórficos en un cromosoma es lo que define el haplotipo de un gen. Los haplotipos del gen  $\beta^s$  han sido designados según el área geográfica (población africana) donde predominan (Pagnier *et al.*, 1984) y han sido clasificados en cinco tipos diferentes. El tipo Benin (Ben) predomina en el medio oeste de África, el Bantú o República Central de África (CAR, por las siglas en inglés) en el este y subcentro de África, el Senegal (Sen) en la costa atlántico del oeste de África (Pagnier *et al.*, 1984), el tipo Arab Indio en el subcontinente Indio y la península Arábig del este (Kulosik *et al.*, 1986) y el tipo Camerún (Cam) predomina a lo largo de la costa oeste de África (Lapoumeroulic *et al.*, 1992). Con el desarrollo de las nuevas técnicas de biología molecular como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha sido posible determinar, mediante 11 sitios polimórficos en el bloque  $\beta$  globina, los distintos haplotipos del gen  $\beta^s$ , (Nagel, 1984; Pagnier *et al.*, 1984).

En Venezuela, el estudio de las hemoglobinopatías tiene importancia clínica, genética y antropológica. El presente trabajo tiene como finalidad determinar el origen, distribución y frecuencia de cada uno de los referidos marcadores, como parte del estudio de la estructura génica de cada población.

## Materiales y Métodos

Se estudiaron 80400 casos de individuos provenientes de estudios poblacionales en diferentes regiones del país (Figura 1) y un grupo de pacientes referidos con diagnóstico de anemia hemolítica y atendidos en el Laboratorio de Investigación de Hemoglobinas Anormales del Hospital Universitario de Caracas y del Instituto Anatómico "José Izquierdo", Universidad Central de Venezuela, y en el Laboratorio de Hematología Experimental del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC). Este estudio abarca la experiencia de 20 años de recolección de muestras. A

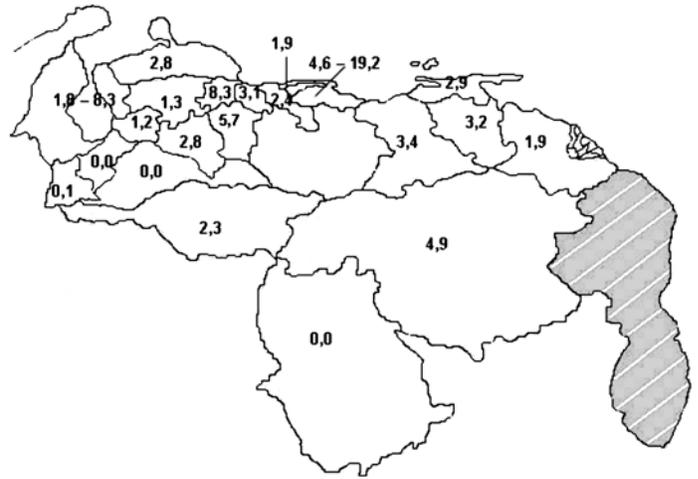


Figura 1: Frecuencia de la Hb S en estado heterocigoto en escolares de diferentes regiones de Venezuela.

cada paciente se le extrajo, previa autorización, 10ml de sangre periférica en un tubo con EDTA como anticoagulante. Este estudio forma parte de un estudio de marcadores genéticos de la población Venezolana para así determinar la composición étnica de la población.

Los pacientes fueron agrupados en dos grandes grupo. El primero contó con 76400 individuos estudiados mediante métodos tales como electroforesis de hemoglobina en membranas de acetato de celulosa (Titan III-H, Helena Laboratories, Beaumont, Texas, EEUU) en buffer Tris-EDTA-Borato pH 8,6 y en citrato agar, para lo cual se utilizó bacto agar (Difco Laboratories, Detroit, Michigan, EEUU) en buffer citrato, pH 6,2. Esta última técnica se empleó para separar e identificar la Hb C de la Hb A<sub>2</sub>, y la Hb S de la D y otras variantes de menor frecuencia. La presencia de la Hb S fue confirmada a través de la prueba de solubilidad de Itano (1953). La cuantificación de Hb A<sub>2</sub> se realizó con la técnica de microcromatografía de intercambio iónico (Helena Laboratories, Cat. N° 5334 y 5341). La hemoglobina fetal se cuantificó según el método de desnaturalización por álcali de Betke *et al.* (1959)

El segundo grupo estuvo compuesto por 4000 individuos estudiados mediante cromatografía líquida de alta presión de intercambio catiónico (HPLC-CE) utilizando el  $\beta$  Tal Short Program® en el equipo Variant® de BioRad (Tan *et al.*, 1993), determinándose la presencia y cuantificación de las distintas hemoglobinas: Hb A, Hb F, Hb A<sub>2</sub>, Hb S y Hb C, así como otras variantes de hemoglobinas.

Los haplotipos del gen  $\beta^s$  fueron estudiados en 272 cromosomas de pacientes con síndrome drepanocítico (SCA) y heterocigotos para la Hb S. Para ello, el ADN fue extraído a partir de leucocitos de sangre periférica según Poncz *et al.* (1982).

**TABLA I**  
DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LOS DIFERENTES TIPOS DE HEMOGLOBINOPATÍAS

Diagnóstico	Nº pacientes	Frecuencia (%)
Portador de Hb S	4191	57.4
Enfermedad por Hb S	904	12.4
Doble Heterocigoto Hb S/ Beta Tal	146	2.1
HPFH	225	3.1
Beta Talasemia	1036	14.2
Doble Heterocigoto Hb S/ Hb C	250	3.4
Doble Heterocigoto Hb S/ Hb D	13	0.2
Portador de Hb C	442	6.0
Enfermedad por Hb C	35	0.5
Doble Heterocigoto Hb C/ Beta Tal	7	0.1
Portador de Hb D	117	1.6
Otras Hb	129	1.8
Total	7305	100

Siete fragmentos en el grupo del gen  $\beta$  globina fueron amplificados por medio de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando el protocolo de Sutton *et al.* (1989). Posteriormente los fragmentos fueron digeridos con endonucleasas de restricción para identificar los sitios polimórficos Xmnl 5' en el gen  $\gamma^L$ , HindIII en el IV-SII del gen  $\gamma^L$  y  $\gamma^A$ , HincII 3' $\phi\beta$ , HincII  $\phi\beta$ , HinfI en 5'  $\beta$  y HpaI 3' $\beta$ (CHEQUEAR). Usando seis de estos polimorfismos, cada cromosoma fue agrupado en cinco haplotipos: Benin (----+), CAR (-+----), Senegal (++-+++), Camerún (-+++++) y Atípico (las demás combinaciones).

### Resultados

De los 80400 individuos estudiados para determinar la frecuencia de las variantes estructurales, talasemia y HPFH, el 9% (7305 individuos; **Tabla I**) presentó hemoglobinopatías, siendo la Hb S la variante más frecuente (69,8%) seguida de las variantes C (6,5%) y D (1,6%). Además, se observó la presencia de beta ( $\beta$ )

talasemia y su asociación a las hemoglobinas S (2,0%) y C (0,1%).

Cuando las poblaciones estudiadas fueron agrupadas de acuerdo a la composición étnica, se observó que la frecuencia de las hemoglobinopatías era variable de acuerdo a la población estudiada y esta variación dependió del componente genético de la población. El grupo con mayor componente africano presentó mayor incidencia de Hb S que

el grupo proveniente de poblaciones indígenas, donde solo se observó la presencia de la variante de Hb S en aquellas poblaciones donde hay mayor mezcla, tal como en los Guajiros (**Tabla II**). El grupo estudiado incluyó 2000 individuos de cada una de las poblaciones seleccionadas, a excepción de la población indígena donde se estudio 5000 individuos. Al analizar los pacientes anémicos referidos al Laboratorio de Investigación de Hemoglobinas Anormales se encontró que el 25% presentaban hemoglobinopatías.

También se encontraron variantes ya conocidas, como por ejemplo la variante de Hb North Shore-Caracas (Arends *et al.*, 1977), la cual presenta una migración rápida en acetato de celulosa y su elusión con el método de HPLC-CE fue a nivel de la hemoglobina A.

La  $\beta$  talasemia fue diagnosticada en 1036 casos. Esto fue realizado tomando en cuenta el porcentaje de Hb A, Hb A<sub>2</sub>, Hb F, los parámetros hematológicos (Hb, Hcto, VCM, CHCM) y la presencia de un cuadro clínico compatible con la enfermedad. Los niveles de Hb A<sub>2</sub> en todos los

casos estuvieron aumentados en 3,7-7,7%, a excepción de 2 casos cuyos niveles estuvieron dentro de los valores normales. Además, se observó que solo el 38% (2,5-97,0%) de los pacientes presentaron niveles elevados de Hb F. El análisis clínico mostró que 74% de los pacientes eran portadores de un cuadro clínico de beta talasemia menor, 2,5% presentaron beta talasemia intermedia y 1,2% la forma más severa de la enfermedad, la beta talasemia mayor. La beta talasemia también se observó asociada a las variantes de Hb S y HbC.

En los estudios realizados antes de la implementación de la técnica de HPLC-CE, el porcentaje de doble heterocigoto  $\beta$  talasemia - Hb S o Hb C fue de 13%; sin embargo, los estudios posteriores con dicha técnica arrojaron que la  $\beta$  talasemia estaba asociada a Hb S y a Hb C en un 22%.

En los doble heterocigotos Hb S -  $\beta$  talasemia, la cuantificación del porcentaje de Hb A por medio de la técnica de HPLC-CE permitió clasificar a los pacientes en Hb S -  $\beta^+$  Tal Tipo 1, Hb S -  $\beta^+$  Tal Tipo 2, y Hb S -  $\beta^0$  Tal. De la misma manera fueron clasificados los pacientes doble heterocigotos con Hb C -  $\beta^+$  Tal (**Tabla III**).

El estudio del haplotipo del gen  $\beta^s$  en 272 cromosomas de pacientes con síndrome drepanocítico (SCA) y heterocigotos para la Hb S, con el propósito de conocer el origen de la hemoglobina S en nuestra población, mostró que el cromosoma  $\beta^s$  está ligado en un 50,8% al haplotipo Benin, 32,2% al CAR, 14,2% al Senegal y 2,3% al Camerún. Igualmente, se encontró que de los 81 pacientes homocigotos para la Hb S estudiados, el 82% fueron doble heterocigotos para los haplotipos Ben/CAR, el 8,8% presentaron haplotipos Ben/Senegal, CAR/Senegal y Ben/Camerún, solo el 8%

**TABLA II**  
FRECUENCIA DE LAS VARIANTES HEMOGLOBÍNICAS EN DIFERENTES POBLACIONES VENEZOLANAS

Fenotipo	Población							
	Africana		Mestiza		Indígena		Hospitalaria	
	Número	%	Número	%	Número	%	Número	%
Hb AA	1202	60,1	1466	73,3	3820	76,4	1284	64,2
Portador de Hb S	382	19,1	230	11,5	260	5,2	344	17,2
Hb A <sub>2</sub> elevada	52	2,6	72	3,6	65	1,3	139	7,0
Enfermedad por Hb S	144	7,2	150	7,5	0	0	158	7,9
Portador de Hb C	188	9,4	56	2,8	170	3,4	32	1,6
HPFH	32	1,6	0	0	685	13,7	0	0
Hb S / Hb C	0	0	0	0	0	0	23	1,2
Otras Hb	0	0	26	1,3	0	0	20	1,0
Total	2000	100	2000	100	5000	100	2000	100

**TABLA III**  
FRECUENCIA DE LOS DIFERENTES TIPOS DE B TALASEMIA DETECTADAS POR HPLC-CE

Diagnóstico	Nº pacientes	Frecuencia (%)
Beta talasemia menor	114	74,0
Beta talasemia intermedia	4	2,6
Beta talasemia mayor	2	1,2
S - $\beta^+$ Tal- Tipo 1	4	2,6
S - $\beta^+$ Tal- Tipo 2	6	3,9
S - $\beta^0$ Tal,	20	13,0
C - $\beta^+$ Tal- Tipo 1	1	0,7
C - $\beta^+$ Tal- Tipo 2	2	1,2
C - $\beta^0$ Tal	1	0,7
Total	154	100

fue homocigoto para Ben, y un caso fue haplotipo CAR/CAR (Figura 2).

## Discusión

La mayoría de la población venezolana es un híbrido de indígenas, colonos españoles y esclavos africanos, pero con la posterior contribución de inmigrantes italianos, españoles y portugueses, la población se ha vuelto multirracial. Algunos navíos de esclavos vinieron directamente de África a Venezuela y más tarde los esclavos fueron traídos como consecuencia de transacciones lícitas comerciales con las Antillas, para la servir en agricultura y trabajos mineros. También llegaron esclavos fugitivos provenientes de Curazao y Trinidad que permanecieron libres en la selva, eran muy agresivos y eran llamados “negros cimarrones”, quienes más tarde formaron comunidades aisladas que aún hoy en día se encuentran en las montañas. Igualmente, durante el tiempo de la esclavitud proliferó en Venezuela el tráfico ilegal de africanos a tierra firme (Acosta-Saignes, 1967).

La presencia de variantes hemoglobínicas en la población Venezolana está íntimamente relacionada con la llegada de africanos durante el proceso de colonización; es así como la distribución de las mismas responde a un patrón determinado por la manera como estas poblaciones se establecieron en el territorio. Para el siglo XIX se reporta que la población africana esclava (67%) se encuentra en Caracas, poblaciones aledañas y el litoral central; otro 20% se distribuye en las provincias de Maracaibo y Barinas y en las serranías de Coro; y el resto se distribuye en Cumaná, Barcelona y la provincia de Guayana (Cunil-Grau, 1987). En efecto, estudios realizados en varias tribus indígenas nativas indican la total ausencia de mutaciones en su hemoglobina (Arends, 1960, 1961, 1971; Arends y Arends, 1992; Arends *et al.*, 1977) y en los casos donde han sido reportadas se ha demostrado que la presencia de hemoglobinopatías es debida al contacto de esas tribus con poblaciones mestizas (Arends, 1960; Chacín, 2000).

Las variantes más frecuentes son la S y la C y se localizan en poblaciones costeras (Castillo *et al.*, 1985), produciéndose una abrupta disminución en su frecuencia en las poblaciones localizadas en la cordillera de los Andes (Arends, 1984).

La mayoría de las variantes hemoglobínicas, como las Hb S y Hb C son de origen africano y son francamente patológicas. El resto de ellas (Hb A<sub>2</sub> heterocigota, Hb Broussais y HPFH tipo africano, etc.) son generalmente inocuas. El aporte de la inmigración española fue la  $\beta$  talasemia, la Hb D-Punjab y la Hb

Hofu (Arends y Castellanos, 1986). De Italia probablemente vino cierta proporción de  $\beta$  talasemia, la Hb Lepore y la Hb Prato (Arends *et al.*, 1982). La Hb North Shore-Caracas, de origen inglés, ha sido encontrada en Venezuela (Arends *et al.*, 1977), Australia (Brenan *et al.*, 1977) y los EEUU (Smith *et al.*, 1983), apenas en una familia en cada país. La talasemia ha sido encontrada en familias venezolanas de origen chino, pero también en familias que tienen muchas generaciones en el país, sin poder precisarse su procedencia. Finalmente, la Hb Deer-Lodge, encontrada por primera vez en Canadá, ha sido identificada en una familia típicamente venezolana (Arends *et al.*, 1982), por tanto probablemente se trate de una mutación independiente (Arends, 1984).

En algunas poblaciones venezolanas se ha observado que la frecuencia de la variante S está por encima del promedio calculado para la entidad federal en donde se encuentra dicha población. En algunos casos se conoce que estos poblados provienen de cumbes, asentamientos de negros rebeldes (cimarrones) establecidos durante el siglo XV y XVI (Acosta-Saignes, 1967), como por ejemplo las poblaciones de Tapipa, Estado Miranda y Campoma, Estado Sucre (Arends, 1971; González *et al.*, 1998).

Tomando en cuenta que existen haplotipos con altas frecuencias en algunas poblaciones del mundo, es posible estimar la relación de una determinada población con otra. La combinación de los haplotipos del gen  $\beta$ -globina y el análisis de la frecuencia fenotípica de variantes hemoglobínicas aporta información contundente sobre el origen de las poblaciones (Pagnier *et al.*, 1984).

Los africanos traídos a Venezuela provenían de diferentes zonas de África, teoría que se ha confirmado mediante el análisis de los polimorfismos del bloque de genes  $\beta$ -globínicos, particularmente los ligados al gen  $\beta^s$ , que han permitido el estudio de las poblaciones africanas venidas a América.

Desde el punto de vista antropológico, la población africana que

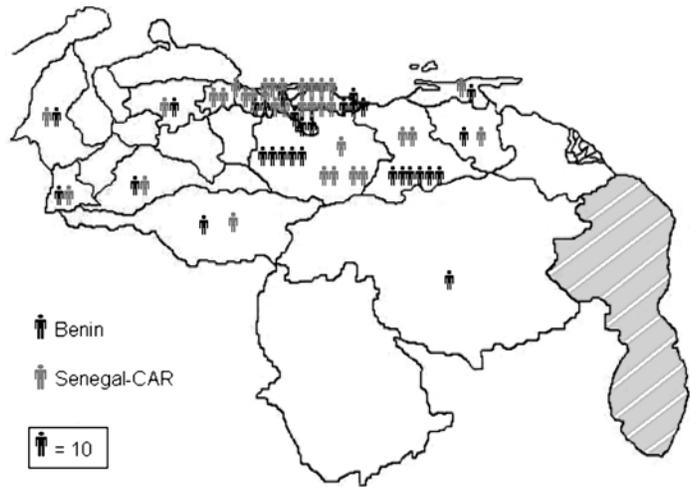


Figura 2: Origen y distribución de haplotipos del gen  $\beta^s$  en la población venezolana.

llegó a Venezuela posiblemente constituyó un grupo heterogéneo que al parecer provino de regiones africanas bien delimitadas, como Sudán y Bantú (Acosta-Saignes, 1967) aunque las dimensiones de cada grupo y el lugar exacto de donde provienen sean dudosos. Es posible considerar que la frecuencia del haplotipo  $\beta^s$  en el país podría ser diferente según la región en estudio, debido a que la frecuencia y la extensión de la Hb S es variable en todo su extensión (Salazar, 2004).

Los estudios del haplotipo  $\beta^s$  demostraron que el haplotipo Benín es el más frecuente en Venezuela (Arends *et al.*, 2000), lo que concuerda con los registros históricos (Acosta-Saignes, 1967) y coincide con lo reportado en Cuba, Guadalupe, EEUU y Jamaica (Antonarakis *et al.*, 1984; Nagel *et al.*, 1984; Muñiz *et al.*, 1995; Keclard *et al.*, 1997), no así en Brasil, donde la frecuencia más alta es la del haplotipo CAR (Costa *et al.*, 1994; Zago *et al.*, 1995). Igualmente, se encontró que de los 81 pacientes homocigotos para la Hb S estudiados, solo el 8% fue homocigoto para Ben/Ben, el 82% fueron doble heterocigotos para los haplotipos Ben/CAR, el 8,8% presentaron haplotipos Ben/Senegal, CAR/Senegal y Ben/Camerún y un caso fue homocigoto para el haplotipo CAR/CAR. Sin embargo, al analizar estudios en poblaciones específicas con un menor número de casos (Olivero, 1995; Moreno *et al.*, 2002) y provenientes de una sola región, se pueden obtener frecuencias diferentes de los haplotipos en estudio.

Así, el haplotipo CAR predomina en individuos  $\beta^s$  provenientes de los estados Sucre, Anzoátegui, Cojedes y Carabobo (Olivero, 1995), mientras que el haplotipo Benin predomina en el estado Aragua y de manera general en todo el país (Moreno *et al.*, 2002; Arends *et al.*, 2000).

La distribución de los pacientes estudiados para el gen  $\beta^S$  coincidió con el mapa de la distribución de los esclavos en Venezuela hacia 1800 de Acosta-Saignes (1967), lo cual permite inferir que la muestra poblacional estudiada refleja la verdadera distribución y frecuencia del gen  $\beta^S$  y que, a pesar del tiempo transcurrido (2 siglos), aún hoy se mantiene igual, aunque en la actualidad debido a las migraciones internas y externas se encuentran casos de drepanocitosis es regiones donde originalmente no se observaron (Figura 2).

Los estudios de Kulozik (1987), Powars (1990) y Nagel (1991) han demostrado que el polimorfismo diferente del grupo del gen  $\beta^S$  modula la severidad clínica. En el presente estudio, la mayor parte de los pacientes fueron Ben/CAR, por lo que deberían tener el mismo curso clínico, "benigno/peor". Ello no fue lo observado, pues hermanos con la misma mezcla de haplotipos, con la delección  $-3.7$  talasemia y en el mismo ambiente y condición socioeconómica, presentan un comportamiento clínico diferente. Por tal razón se puede considerar que el problema no ha sido resuelto y que deben existir otras variables genéticas que modulen la expresión clínica de los pacientes.

El mestizaje evidente de la población hace de los haplotipos y de las variantes hemoglobínicas una herramienta útil para corroborar la información histórica del poblamiento de Venezuela (Salazar-Lugo, 2004). Sin embargo, la gran frecuencia de haplotipos mezclados encontrados en el país podría incidir sobre el comportamiento clínico de los casos.

La frecuencia encontrada de  $\beta$  talasemia está en concordancia con los resultados reportados por Arends (1984), quien en un estudio de 26000 individuos provenientes de poblaciones indígenas, de origen africano y mestizas, no observó  $\beta$  talasemia en las tribus indígenas, y su frecuencia tanto en las poblaciones descendientes de africanos como en las mestizas fue de 1,4%, estimando que para una población de 29 millones de habitantes deberían existir más de 60000 heterocigotos  $\beta$  talasemia (talasemia menor) y 200 homocigotos (talasemia mayor). Posiblemente esta cifra aumente con el uso de la técnica de HPLC-CE, método con el que se demostró que la  $\beta$  talasemia estaba asociada a Hb S y a Hb C en 22% y no en 13%, como lo reportó Arends (1984). Esto indica una subestimación del problema y las ventajas de la utilización del método de HPLC-CE, el cual también permitió la clasificación, de acuerdo a los niveles de Hb A, de los pacientes doble heterocigoto Hb S- $\beta$  Tal, demostrándose que el mayor número de casos eran Hb S  $\beta^0$  Tal, en concordancia con el hallazgo que la mutación supresora CD39 es la causa más

frecuente de  $\beta$  talasemia en la población venezolana (Bravo *et al.*, 2007).

El hallazgo de persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (HPFH) encontrada en los indígenas Warao que habitan en el Delta del Orinoco, reportada por Arends (1975), resulta interesante debido a que se trata de un tipo de HPFH completamente diferente a los tipos africano y griego, y tiene características similares al denominado suizo, aunque la distribución intracelular de la Hb F es totalmente diferente (homogénea). Para la década de los 80, los Warao eran un grupo aislado en el delta del Orinoco, muy estrictos en mantener sus tradiciones culturales y religiosas, por lo que es casi imposible considerar que la HPFH reportada en ellos sea una característica adquirida por la mezcla con poblaciones de origen africano, griego, italiano o suizo (Arends, 1984).

Sin embargo, recientemente, se ha observado un leve incremento en la frecuencia de las variantes hemoglobínicas en poblaciones indígenas (Tabla II), específicamente en ese grupo, donde el aumento de hemoglobinopatías (Hb AS) encontrado posiblemente es debido al contacto comercial y a la mezcla con poblaciones vecinas de origen africano o mestizas (Chacín, 2000).

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento de FONACIT S1-2002000539, G-2005000373, CODECIH-UC 2005-011 y FONACIT-ECOS-NORD PI 2005000758.

#### REFERENCIAS

- Acosta-Saignes M (1967) *Vida de los esclavos negros en Venezuela*. Hesperides. Caracas-Venezuela. 412 pp.
- Antonarakis SE, Boehm CD, Serjeant GR, Theisen CE, Dover GJ, Kazazian HH (1984) Origin of the  $\beta$  globin genes in Blacks: The contribution of recurrent mutation or gene conversion or both. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 853-856.
- Arends A, Alvarez M, Velázquez D, Bravo M, Salazar R, Guevara JM, Castillo O (2000) Determination of beta-globin gene cluster haplotypes and prevalence of alfa-thalassemia in sickle cell anemia patients in Venezuela. *Am. J. Haematol.* 64: 87-90.
- Arends A, Bravo M, Velázquez de L D, Alvarez M, Loreto O, Salazar R, Guevara JM, Castillo O (1998) Origin and prevalence of beta thalassaemia in Venezuela. *Br. J. Haematol.* 102: 48.
- Arends T (1956) Importancia de las hemoglobinas anormales en pediatría. *Arch. Venez. Puericult. Pediat.* 19: 67-80.
- Arends T (1960) Talasemia en venezolanos nativos. *Gaceta Med. Caracas* 69: 333.
- Arends T (1961). El problema de las hemoglobinopatías en Venezuela. *Rev. Venez. S.A.S.* 26: 61-68.

- Arends T (1962) Thalassaemia and its variants in Venezuela. *Proc. 8<sup>th</sup> Int Congr Hematol.* Tokyo, Japón. pp. XX.
- Arends T (1963) Estado actual del estudio de las hemoglobinas anormales en Venezuela. *Sangre* 8: 1-7.
- Arends T (1963) Frecuencia de hemoglobinas anormales en poblaciones humanas suramericanas. *Acta Cient. Venez.* 1: 46-57.
- Arends T (1969) Epidemiology of hemoglobin variants in Venezuela. *1<sup>st</sup> Interam. Symp. Hemoglobins*, Caracas, Venezuela. pp: 82-98.
- Arends T (1971) Epidemiology of Hemoglobin Variants in Venezuela. En *Arends, Bemsky G., Nagel R. (Eds.) Genetical, Functional and Physical Studies of Hemoglobin*. Karger. Basilea, Suiza. pp. XX-XX.
- Arends T (1975) Increased level of Hb F or A<sub>2</sub> in Venezuelan subjects. En Smith RM (Ed.) *Abnormal Haemoglobin and Thalassaemia Diagnostic Aspects*. Academic Press, Nueva York, EEUU. pp. XXX-XXX.
- Arends T (1984) Epidemiología de las variantes hemoglobínicas en Venezuela. *Gaceta Med. Caracas* 92: 189-224.
- Arends T, Arends A (1992) Hematología Geográfica. En *Enciclopedia Iberoamericana de Hematología*. Universidad de Salamanca. España. pp. XXX-XXX.
- Arends T, Layrisse M, Rincón R (1959) Sickle cell - Hemoglobin D disease in a portuguese child. *Acta Haematol.* 22: 118-126.
- Arends T, Gallango ML, Muller A, Gonzalez-Marrero M, Perez-Bandez O (1978) Tapipa: A negroid Venezuelan isolate. En Meyer RJ, Otten CM, Ab-del-Hameed F (Eds.) *Evolutionary Models and Studies in Human Diversity*. Mounton. La Haya, Holanda. pp. 201-214.
- Arends T, Castillo O, Garlin G, Maleh J, Anchustegui M, Salazar R (1987) Hemoglobin Alamo 191. Asn Asp in a Venezuela family. *Hemoglobin* 11: 135-138.
- Arends T, Salazar R, Anchustegui M, Garlin G (1990) Hemoglobin variant in the northeastern region of Venezuela. *Interciencia* 15: 36-41.
- Benain H, Carbonell L, Gil JA, Gómez OL (1946) Primera descripción de la anemia drepanocítica en Venezuela. *Rev. Policlin.* 16: 1.
- Bravo-Urquiola M, Arends A, Montilla S, Gerard N, Velásquez D, García G, Álvarez M, Guevara J, Castillo O, Krishnamoorthy R (2007) Molecular Characterization and origin of  $\beta$  thalassaemia in Venezuela Patients. *Am. J. Hematol.* XX: XX-XX.OJO!!!
- Bowden DK, Vickers MA, Higgs DR (1992) A PCR-based strategy to detect the common severe determinants of alpha thalassaemia. *Br. J. Haematol.* 81: 104-108.
- Costa FF, Arruda VR, Goncalves MG, Miranda SR, Carvalho MH, Sonati MF, Saad SO, Gesteira F, Fernandes D Nascimento MLI (1994) Beta S-gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia patients from two regions of Brazil. *Am. J. Hematol.* 45: 96-75.
- Cunil-Grau P (1987) *Geografía del poblamiento venezolano en el siglo XIX*. 2<sup>a</sup> ed. Comisión Presidencial V Centenario de Venezuela y Universidad Central de Venezuela. XXX pp.
- Chacín M (2000) *Polimorfismo del Gen Beta Globina en Indígenas Warao de la Población de Cangrejito del Delta del Orinoco*. Tesis. Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela. XX pp.
- Dodé C, Krishnamoorthy R, Lamb J, Rochette J

- (1992) Rapid analysis of  $\beta$ -thalassemia and anti- $\beta$  triplication by enzymatic amplification analysis. *Br. J. Haematol.* 82: 105-111.
- Gómez OL, Carbonell L. (1946). *Drepanocitos en Venezuela*. S.E.M. Caracas, Venezuela. XXX pp.
- González M, Salazar R, Álvarez M, Arends A (1998) Haplotipos del gen  $\beta$ -globina en pacientes provenientes de la población de Cam-pota, Estado Sucre. *Acta Cient. Venez.* 49: 252
- Guevara JM, Arends T (1962). Frecuencias de hemoglobinas anormales en niños de Venezuela. *Sangre* 7: 386-396
- Itano HA (1953) Solubilities of naturally occurring mixtures of human hemoglobin. *Arch. Biochem.* 47: 148.
- Keclard L, Romana M, Lavocat E, Saint-Martin C, Berchel C, Merault G (1997) Sick cell disorder, beta-globin gene cluster haplotypes and alpha-thalassemia in neonates and adults from Gadeloupe. *Am. J. Hematol.* 55: 24-27.
- Kulozik AE, Wainscoat SS, Serjeant BE, Kar BC, Al-Awamy B, Essan GJF, Falusi AG, Ilaque SK, Hiladi AM, Kate S, Rapasinghe WA, Weatherall DJ (1986) Geographic survey of  $\beta^S$  globin gene haplotypes: evidence for the independent Asian origin of the sickle cell mutation. *Am. J. Human Genet.* 39: 239-244.
- Lapoumeroulic C, Dunda O, Ducrocq R, Trabuchet G, Mony-Lobe M, Bodo J.M, Carnevale P, Labie D, Ellison J, Krishnamoorthy R (1992) A novel sickle gene of yet another origin in Africa: The Cameroon type. *Human Genet.* 89: 333-337.
- Maggio A, Giambona A, Cai SP, Wall J, Kann YW, Chehab FF (1993) Rapid and simultaneous typing of hemoglobin S, Hemoglobin C and seven Mediterranean Beta thalassemia mutation by covalent reverse dot blot analysis: application to prenatal diagnosis in Sicily. *Blood* 81: 239-242.
- Moreno N, Martinez JA, Blanco Z, Osorio J, Hackshaw P (2002) Beta globin Gene Cluster Haplotype in Venezuela Sickle Cell patients from the state of Aragua. *Genet. Mol. Biol.* 25: 21-24.
- Muñiz A, Corral L, Alaez C, Svarch E, Espinosa E, Carbonell N, Di-Leo R, Felicetti L, Nagel RL, Martinez G (1995) Sickle cell anemia and beta-gene cluster haplotypes in Cuba. *Am. J. Hematol.* 49: 163-164.
- Nagel RL (1984) The origin of the hemoglobin S gene: Clinical, genetic and anthropological consequences. *Einstein Quart. J. Med.* 2: 53-62.
- Neel JV (1949) The inheritance of sickle cell anemia. *Science* 110: 64.
- Olivero R (1995) Determinación de polimorfismos asociados al gen beta S en pacientes con anemia drepanocítica. Tesis. IVIC. Caracas, Venezuela. XXX pp.
- Ossot H, Agüero O (1950) Anemia drepanocítica en embarazada. *Boletín M.C.P.* 1: 6.
- Pauling L, Itano HA, Singer SJ, Wells IG (1949) Sickle-cell anemia, a molecular disease. *Science* 110: 543.
- Poncz M, Solowiejczyk D, Harpel B, Mory Y, Schwartz E, Surrey S (1982) Construction of human genes libraries from small amount of peripheral blood: Analysis of  $\beta$  like globin genes: *Hemoglobin* 6: 27.
- Romer MA (1958) Consideraciones sobre la talasemia con motivo de la comprobación de los primeros casos en Venezuela. *Gaceta. Med. Caracas* 66: 27.
- Salazar-Lugo R (2004) La hemoglobina S en la población venezolana. *Invest Clin.* 45: 175-183.
- Sutton M, Boushassira EE, Nagel RL (1989) Polymerase chain reaction amplification applied to the determination of Beta globin gene cluster haplotypes. *Am. J. Hematol.* 32: 66-69.
- Zago MA, Melo-Santos EJ, Clegg JB, Guerreiro JF, Martinson JJ, Norwich J, Figueiredo MS (1995) Alpha-globin gene haplotypes in South American Indians. *Human Biol.* 67: 535-546.

## HEMOGLOBINOPATHIES IN VENEZUELA

Anabel Arends, Anabel Arends, Marycarmen Chacín, Martha Bravo-Urquiola, Silvia Montilla, José María Guevara I, Dalia Velásquez de L., Gloria García, Maritza Álvarez and Omar Castillo

### SUMMARY

*Hemoglobinopathies are a heterogeneous group of congenital defects involving the hemoglobin variants, thalassemias and hereditary persistence of fetal hemoglobin (HPFH). The distribution of these pathologies in Venezuela was determined. A high frequency was found in some areas, where they represent a mayor or public health problem. The study covered 80400 individuals in population studies from different regions and hemolytic anemia patients referred to two centers of hematological research. Cellulose acetate and citrate agar electrophoresis was employed in 76400 cases and 4000 were studied with high performance liquid chromatographic ion exchange (HPLC-CE). It was found that 9% of the individuals carried hemoglobinopathies, being Hb S*

*the most frequent, followed by Hb C and Hb D. The presence of beta thalassemia and its association with Hb S and Hb C was also found. The frequency of  $\beta^S$  haplotypes found in 272 chromosomes was 50.8% Benin, 32.2% CAR, 14.2% Senegal and 2.3% Cameroon. A very high frequency of mixed haplotypes was observed in the sickle cell anemia patients, 82% Ben/CAR, 8.8% Ben/Senegal, CAR/Senegal and Ben/Cameroon, 8% homozygous for Ben and one individual CAR/CAR. It is important to study the prevalence of hemoglobinopathies in all patients with hemolytic anemia in order to establish an early treatment and genetic counseling, achieving a better life standard and savings in the health system.*

## HEMOGLOBINOPATÍAS EN VENEZUELA

Anabel Arends, Anabel Arends, Marycarmen Chacín, Martha Bravo-Urquiola, Silvia Montilla, José María Guevara I, Dalia Velásquez de L., Gloria García, Maritza Álvarez e Omar Castillo

### RESUMEN

*Entre las hemoglobinopatías, grupo heterogéneo de alteraciones congénitas, destacan: las variantes de hemoglobina, las talasemias y la persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (HPFH). Se determinó la distribución de estas patologías en Venezuela y se demostró que presentan una elevada frecuencia, constituyendo un problema de salud pública. Se analizaron 80400 individuos provenientes de estudios poblacionales de diferentes regiones del país y otros que por presentar anemia hemolítica fueron referidos a dos centros de investigación hematológica. Fueron estudiadas 76400 muestras mediante electroforesis en acetato de celulosa y en citrato agar y 4000 por cromatografía líquida de alta presión de intercambio catiónico (HPLC-CE). Se encontró que el 9% de los individuos presentaron hemoglobinopatías. La variante más frecuente*

*fue la Hb S, seguida de las variantes C y D. Además, se observó la presencia de la beta talasemia y su asociación a las hemoglobinas S y C. La frecuencia de los haplotipos del gen  $\beta^S$  estudiados en 272 de pacientes con síndrome drepanocítico (SCA) y heterocigotos para la Hb S fue de 50,8% Benin, 32,2% CAR, 14,2% Senegal y 2,3% Camerún. Se encontró que en los pacientes homocigotos para la Hb S estudiados, solo el 8% fue homocigoto para el haplotipo Ben, 82% fueron doble heterocigotos para los haplotipos Ben/CAR, 8,8% presentaron haplotipos Ben/Senegal, CAR/Senegal y Ben/Camerún y un caso fue homocigoto para el haplotipo CAR. La detección de estas patologías es de importancia para establecer un tratamiento precoz y consejo genético, logrando una mejor calidad de vida y gran ahorro para el sistema de salud.*

#### NOTA PARA LOS AUTORES

- Nótese que el trabajo ha sido extensamente editado. Revisar cuidadosamente.
  - Revisar Bionota autores. Completar la información faltante si fuese el caso: grados académicos, institución donde los obtuvo, actual afiliación institucional. Favor elaborarla en el mismo idioma del trabajo. Solo el autor de correspondencia lleva dirección postal completa (ejemplos en [www.interciencia.org](http://www.interciencia.org) últimos números publicados).
  - Trabajos en español: Revisar títulos, palabras clave, en inglés y español (versión al portugués la elabora Interciencia).
  - Revisar cambios en Figuras y Tablas.
  - Revisar la bibliografía: **IMPORTANTE!!!**
- a) Cotejar que todos los autores citados estén en la lista de referencias y viceversa.
  - b) Completar la información faltante, números de páginas, editorial, lugar, Vol, etc.
  - c) No confundir año de publicación y verificar uno, dos o más autores.
- Enviar un documento de Word indicando claramente el número de página, columna y línea donde desea hacer la corrección.